

(様式 14)

平成 31 年 3 月 1 日

学 位 論 文 の 内 容 の 要 約

氏 名	武井 麻美
学位の種類	博士（農学）
学府又は研究科・専攻	大学院連合農学研究科・生物生産科学専攻
指導を受けた大学	茨城大学
学位論文題目	昆虫におけるインドール酢酸生成に関する研究

【論文の内容の要約】

背景・目的

ある種の昆虫は摂食や産卵により、ゴールという異常な組織を形成する。ゴール形成昆虫には植物組織より高濃度のインドール-3-酢酸（IAA）やサイトカイニンが含まれているため、これらの物質がゴール形成に関与すると示唆されているが、ゴール形成の詳細な機構は明らかとなっていない。昆虫はゴール形成能に関わらず IAA を生合成することができ、トリプトファン（Trp）→インドール-3-アセトアルドキシム（IAOx）→インドール-3-アセトアルデヒド（IAAld）→IAA という共通した経路で IAA を生合成すると推定されている。本論文ではゴール形成昆虫が高い IAA 生合成能を進化的に獲得してきたと仮定し、その証拠を得るために、ゴール形成昆虫であるハバチ（*Pontania* sp.）とゴールを形成しないカイコ（*Bombyx mori*）における IAA 生合成酵素の同定を目的とした。

結果・考察

第1章では、カイコの IAAld→IAA の変換酵素として同定されている *Bombyx mori* IAAld oxidase 1（BmIAO1）が IAA 生合成経路に及ぼす影響について検討した。BmIAO1 が基質とする IAAld の前駆体である Trp や IAOx からの変換活性を評価したところ、*in vitro* 反応系で Trp→IAAld の変換が BmIAO1 の補因子である FAD によって非酵素的に起こることが判明した。しかし、この変換はアスコルビン酸によって抑制されること、粗酵素では非酵素的な変換が起きないことから、生体内では非酵素的な変換は制御されていると推測された。さらに、BmIAO1 は IAOx から IAA の変換を触媒する酵素活性があることが明らかとなった。

第2章では、カイコにおける Trp から IAAld までを変換する IAA 生合成酵素を同定するため、カイコ絹糸腺抽出液を精製し、変換活性を LC-MS/MS を用いて測定した。陰イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーに供したが、Trp から IAAld に至るまでの変換量が少なかったため、生合成酵素の同

定には至らなかった。

第3章では、すでに Trp→IAOx や Trp→IAAld の変換活性が知られている植物や微生物の酵素と相同性の高い配列をハバチとカイコから選抜し、大腸菌を用いた組換えタンパク質を作製して機能を解析した。また、ハバチの遺伝子情報は次世代シーケンサー解析（RNA-seq およびゲノムシーケンス）により構築した。その結果、ハバチから得られた PonFMO1 と PonAAS2 にそれぞれ Trp→IAOx, Trp→IAAld の変換活性があったため、これらの酵素をハバチにおける IAA 生合成酵素として同定した。

結論

本論文では、BmIAO1 による IAOx から IAA への変換活性を明らかにし、ハバチにおける IAA 生合成酵素を新たに 2 つ同定した。今後、本論文で同定した酵素が昆虫の IAA 生合成にどの程度関与しているか解析をする必要がある。また、RNA-seq 解析から BmIAO1 のオーソログと推定される配列（PonIAO）があることが明らかとなっている。PonIAO が BmIAO1 と同じ活性を持つと仮定すると、本研究により同定された PonFMO1 が Trp→IAOx を変換し、PonIAO が IAOx→IAAld→IAA を変換する、または PonAAS2 が Trp→IAAld を変換し、PonIAO1 が IAAld→IAA を変換することで、ハバチにおける一連の IAA 生合成酵素が同定されることとなる。これらの酵素を用いて昆虫における推定 IAA 生合成経路を検証できるだろう。